

Die Bewegung des *Mesotaenium*-Chloroplasten im Starklichtbereich

Der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt
von
Raimund Gärtner
aus
Nürnberg

1968

Gustav Fischer Verlag Stuttgart
1970

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Tag der mündlichen Prüfung: 27. 11. 1968

Dekan: Professor Dr. H. Wegener

Erstberichterstatter: Professor Dr. W. Haupt

Zweitberichterstatter: Professor Dr. E. Kessler

Sonderdrucke aus: Zeitschrift für Pflanzenphysiologie

Bd. 63. S. 147-161. 1970

Bd. 63. S. 428-443. 1970

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Die Bewegung des *Mesotaenium*-Chloroplasten im Starklichtbereich

I. Zeit- und temperaturabhängige Sekundärprozesse*)

RAIMUND GÄRTNER

Mit 9 Abbildungen

Eingegangen am 5. Februar 1970

Summary

The chloroplast movement of *Mesotaenium* in high intensity light.

I. Time and temperature dependent secondary processes

In high intensity light, the chloroplast of the unicellular green alga *Mesotaenium* turns as to expose its profile to the light. In white light of the Xenon arc, threshold can be found near $30 \text{ Kergs} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$, but the sensitivity can be increased by a factor of two by preirradiating the cells with far-red during 40 minutes (fig. 3), and furthermore, a similar sensibilization can be obtained by lowering the temperature from 15° to 5°C (fig. 7).

The sensitivity is restricted to the blue part of the spectrum, and in polarized light response takes place if the vibration plane and the cell axis are normal to each other.

Based upon these facts, the response has been investigated using intermittent light and different temperatures.

In room temperature, the response needs about 20 minutes of continuous irradiation. If, instead, the same light energy is applied in light flashes of fractions of a minute, separated by dark phases of similar lengths, the response is increased or decreased depending on the time relation between light and dark, and on the absolute length of the dark break (fig. 5). It is especially noted that maximum response is obtained with periodic dark breaks of 10 seconds, pointing to secondary processes which are important for the response and which last about this time.

The inhibitory effect of longer dark breaks can be diminished by lowering the temperature (fig. 6), pointing to biochemical processes after the irradiation which destroy the primary effect of the irradiation. The velocity of chloroplast movement is temperature-dependent; between 5° and 15° a Q_{10} of 2,8 has been found. Thus biochemical processes seem to be limiting for the movement.

In high CO_2 concentrations, the movement is much slower than in normal conditions (fig. 9); this might be due to changes in viscosity.

Zusammenfassung

Bei der Starklichtbewegung des plattenförmigen Chloroplasten von *Mesotaenium* – Bewegung aus Flächen- in Kantenstellung – werden Hinweise auf die Beteiligung verschiedener Sekundärprozesse gefunden. Wird die kontinuierliche Bestrahlung durch intermittierende

*) 1. Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.

ersetzt, so findet sich maximale Reaktion bei Dunkelperioden von 10 sec. Die nachteilige Wirkung längerer Dunkelperioden wird durch Temperaturerniedrigung verringert.

Die Bewegungsgeschwindigkeit ist temperaturabhängig ($Q_{10} = 2,8$). CO_2 verlangsamt die Bewegung.

Einleitung

Der plattenförmige Chromatophor der einzelligen Grünalge *Mesotaenium* ist zu Drehbewegungen um seine Längsachse innerhalb der zylindrischen Zelle befähigt. Er wendet dem Licht in Abhängigkeit von dessen Intensität, Qualität und Polarisations-ebene, aber auch von anderen Faktoren, das Profil oder die Fläche zu. Diese beiden Orientierungen werden als Profilstellung bzw. Starklichtlage oder als Flächenstellung bzw. Schwachlichtlage bezeichnet (Abb. 1). Es handelt sich um einen analogen Bewegungstyp, der bei der fadenförmigen Alge *Mougeotia* bereits eingehend untersucht wurde (SENN, 1908; MOSEBACH, 1958; HAUPT, 1959; SCHÖNBOHM, 1963; vgl. auch HAUPT, 1969). Für *Mesotaenium* liegen bis jetzt nur Ergebnisse für den Schwachlichtbereich vor (HAUPT und THIELE, 1961; DORSCHIED und WARTENBERG, 1966).

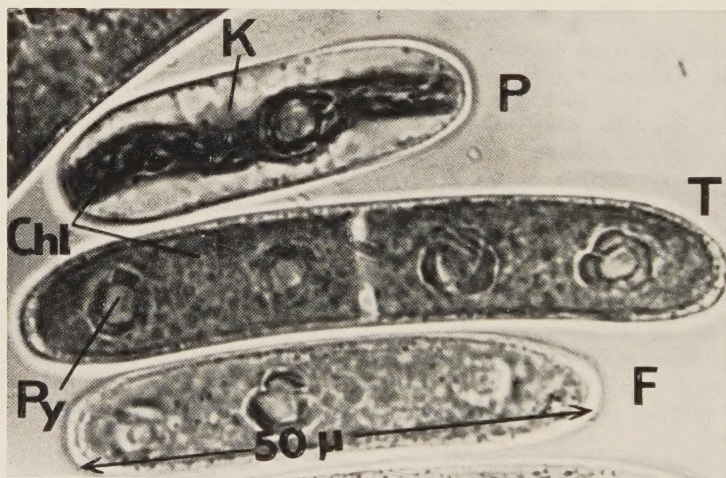


Abb. 1: *Mesotaenium caldarium*: Zellen mit Flächen- oder Profilstellung der Chloroplasten. F = Flächenstellung bei einer adulten Zelle, P = Profilstellung bei einer jungen Zelle, T = Teilungsstadium eines Chloroplasten. Chl = Chloroplast, K = Zellkern, Py = Pyrenoid.

Da hierbei – trotz Übereinstimmung in den wesentlichen Gesetzmäßigkeiten – gewisse Unterschiede zwischen dem Reaktionsverhalten beider Objekte auftraten, erscheint es sinnvoll, bei *Mesotaenium* auch die Starklichtbewegung vergleichend zu *Mougeotia* zu untersuchen. Überdies bietet *Mesotaenium* den Vorzug, daß bei jedem Versuch eine sehr große Zahl voneinander unabhängiger Zell-Individuen erfaßt werden kann. Deshalb repräsentieren die Messungen relativ zuverlässig das Verhalten der gesamten Population.

In der vorliegenden Arbeit wird hauptsächlich über Untersuchungen berichtet, die sich mit den Sekundärprozessen der Chloroplastenbewegung befassen.

Material und Methodik

1. Versuchsobjekt und Kulturbedingungen

Als Versuchsobjekt diente ein Stamm von *Mesotaenium caldarium* aus der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen (Kultur Nr. 648-1).

Die Anzucht der Algen erfolgte in Petrischalen unter Verwendung einer Nährlösung folgender Zusammensetzung¹⁾:

MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,006 g ‰
K ₂ HPO ₄	0,006 g ‰
KNO ₃	0,06 g ‰
Erddekokt ²⁾	5,0 ml auf 100 ml Nährlösung
Spurenelemente ³⁾	0,2 ml auf 100 ml Nährlösung
pH = 7,5–8,5	

Stammkulturen wurden auf Schrägagar (Nährlösung mit 0,1 g ‰ Proteose-Pepton und 1,0 g ‰ Agar-Agar, Firma Merck) gehalten.

Die Temperatur im Kulturraum betrug $16 \pm 1^\circ \text{C}$. Die Algen wurden im Weißlicht bei einem Licht-Dunkel-Wechsel von 12 : 12 Stunden angezogen, wobei die Lichtphase zwischen 7 und 19 h lag. Es wurde folgende Kombination von Lichtquellen verwendet:

Leuchtstoffröhren: 1 Osram-L 40 W/35
 1 Osram-L 40 W/25
 1 Atlas 40 W/4200° K
 Glühlampen: 2 Osram Milchglaslampen 40 W

Die Lichtintensität betrug 800 Lux.

Zu den Versuchen wurden die Zellen nach einer Kulturdauer von 14 Tagen verwendet.

2. Präparation

Für die Versuche wurde eine spezielle Kammer konstruiert (Abb. 2): Auf einen Objektträger war eine 2 mm dicke Plexiglasplatte mit einer zentralen Bohrung von 20 mm Durchmesser geklebt. Die Algen wurden mit einer Impföse auf ein Deckglas gebracht, mit einem

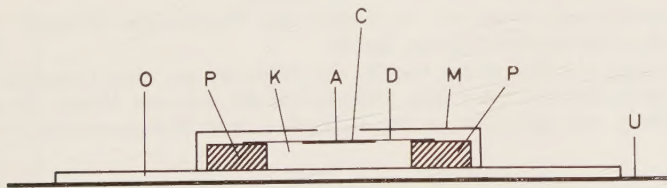


Abb. 2: Versuchsanordnung (Längsschnitt). Abkürzungen: A = Algen, C = Cellophan, D = Deckglas, K = Kammer, M = Maske aus schwarzem Papier, O = Objektträger, P = Plexiglas, U = Unterlage aus mattem, schwarzem Papier.

¹⁾ Nach Dr. KOCH, Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Göttingen.

²⁾ Nach SCHÖNBOHM, 1963, S. 234.

³⁾ Nach PRINGSHEIM, 1963, S. 140.

in Nährlösung gequollenen Stück Cellophan¹⁾ von 1 cm² Fläche abgedeckt und so durch mäßigen Druck festgelegt. Das Deckglas wurde mit dem Tropfen nach unten über die Bohrung gesetzt und die Präparate-Kammer an den Auflageflächen des Deckglases mit Vaseline abgedichtet. Damit war ein Austrocknen während des Versuches verhindert und zugleich war gewährleistet, daß die Zellen ihre Lage zuverlässig beibehielten.

Bei der Untersuchung des Einflusses von CO₂ auf die lichtinduzierte Chloroplastenbewegung (vgl. S. 158) waren höhere Kammern notwendig (Dicke der Plexiglasplatte 6 mm).

Die Präparate wurden im allgemeinen 15–20 Stunden vor Versuchsbeginn angesetzt und verblieben bis zu ihrer Verwendung unter Anzuchtbedingungen im Kulturraum. Alle Versuche wurden in der Zeit zwischen 10 und 18 Uhr durchgeführt. Meßwerte von verschiedenen Tagen konnten nur direkt verglichen werden, wenn sie zur gleichen Tageszeit ermittelt worden waren, da die Reaktionsfähigkeit der Algen einer nicht näher untersuchten Tagesperiodizität unterlag.

3. Vorbehandlung

Um quantitative Aussagen über die Starklichtbewegung machen zu können, ist als Ausgangslage aller Chloroplasten Flächenstellung Vorbedingung. Deshalb wurde 3 Stunden lang Weißlicht der Intensität 1000 Lux senkrecht von oben, unter Abschirmung seitlichen Lichtes, eingestrahlt (vgl. SCHÖNBOHM, 1963). Nach dieser Zeit waren die Chloroplasten aller Zellen «gerichtet», d. h. sie hatten Flächenstellung eingenommen. Anschließend wurde eine kurze Kontrolle der Präparate im Mikroskop bei Sicherheitslicht (s. u.!) durchgeführt. Nach dem «Richten» konnte die Versuchsbestrahlung sofort erfolgen, meist wurde jedoch noch eine sensibilisierende DR-Vorbestrahlung (s. u.!) zwischengeschaltet.

4. Bestrahlungstechnik

Als Lichtquellen dienten die Xenonhochdrucklampen XBO 162 und XBO 501 (Firma Osram). Die Bestrahlung der Präparate mit Parallellicht erfolgte über einen Oberflächenspiegel senkrecht von oben. Unerwünschte Wärmestrahlung wurde durch Wärmeschutzgläser KG 1 (Schott und Gen., Mainz) ferngehalten. Außerdem fanden folgende Farbglasfilter (Schott) Verwendung: BG 7 (Blau), RG 9 (Dunkelrot) und die Kombination KG 1, GG 14 und BG 18 (grünes Sicherheitslicht; vgl. HAUPT, 1959).

Die Lichtintensität wurde entweder durch Graugläser NG 11 (Schott) oder durch Veränderung des Abstandes Präparat-Lichtquelle abgestuft. Durch zusätzliche Einschaltung von Quarzglaslinsen in den Strahlengang konnten beträchtliche Intensitätssteigerungen erzielt werden.

Für die Bestrahlung mit linear polarisiertem Licht erwies sich die Polarexfolie W 68 UV (Firma Käsemann, Oberaudorf/Inn) als besonders günstig.

Die Intensitätsmessung in erg/cm² · sec erfolgte mit Thermosäulen (Kipp & Zonen, Delft) über ein Multiflex-Galvanometer (Lange, Berlin).

Zur Vermeidung von Reflexionen wurden alle Präparate auf einer Unterlage aus mattem, schwarzem Papier belichtet. Über dem Deckglas befand sich eine Maske, die die Aufgabe hatte, die Bildung von Streulicht an den Cellophan- und Plexiglasrändern zu verhindern (vgl. Abb. 2).

Alle Belichtungen fanden in Klimakammern statt, deren Temperatur zwischen 0 und 35°C (± 1°C) regelbar war.

Die Mehrzahl der Versuche wurde bei 20°C durchgeführt. Sofern jedoch die Temperatur als systematisch variiertes Faktor in die Versuche einging, wurde sie direkt am Präparat mit einer Thermoanode über ein Galvanometer (Kipp & Zonen) gemessen.

¹⁾ Das benutzte Cellophan (Firma Kalle) mußte vor Verwendung mehrmals gewässert werden, um toxische Wirkungen durch darin enthaltene Antibiotika zu beseitigen.

5. Auswertung

Zur Auswertung der belichteten Präparate im Mikroskop unter Sicherheitslicht wurde an drei verschiedenen Stellen desselben Präparates aus je 50 Zellen der Prozentsatz von Chloroplasten, die eindeutige Kantenstellung eingenommen hatten, bestimmt. In Versuchen mit polarisiertem Licht wurden sinngemäß nur diejenigen Zellen ausgewertet, die eine definierte Lage zur Richtung des E-Vektors hatten. Das arithmetische Mittel der Zählungen wird als «Reaktionswert» (% Chloroplasten in Profilstellung) eines Präparates bezeichnet. Die Auszählung der Präparate mußte sofort nach Belichtungsende vorgenommen werden, da ca. 10 min später die Kantenstellung wieder verlassen wird (vgl. auch SCHÖNBOHM, 1963, für *Mougeotia*).

Die Punkte der im folgenden wiedergegebenen Kurven stellen das arithmetische Mittel der Reaktionswerte von ca. 15–20 Präparaten dar. Der mittlere Fehler des Mittelwertes betrug in der Mehrzahl der Fälle etwa $\pm 2\%$.

Experimenteller Teil

1. Zeitlicher Verlauf und Intensitätsabhängigkeit der Chloroplastenbewegung im Starklicht

Bei kontinuierlicher Bestrahlung mit Weißlicht (Xenonlampe) konstanter Intensität setzt eine nennenswerte Starklichtreaktion nicht vor 5 min ein. Die Bewegung läuft je nach Reaktionsfähigkeit der Algen in 20 bis 30 min ab. Bestrahlungszeiten von 10 min und mehr bewirken nach Belichtungsende kein Weiterdrehen der Chloroplasten in Richtung Profilstellung.

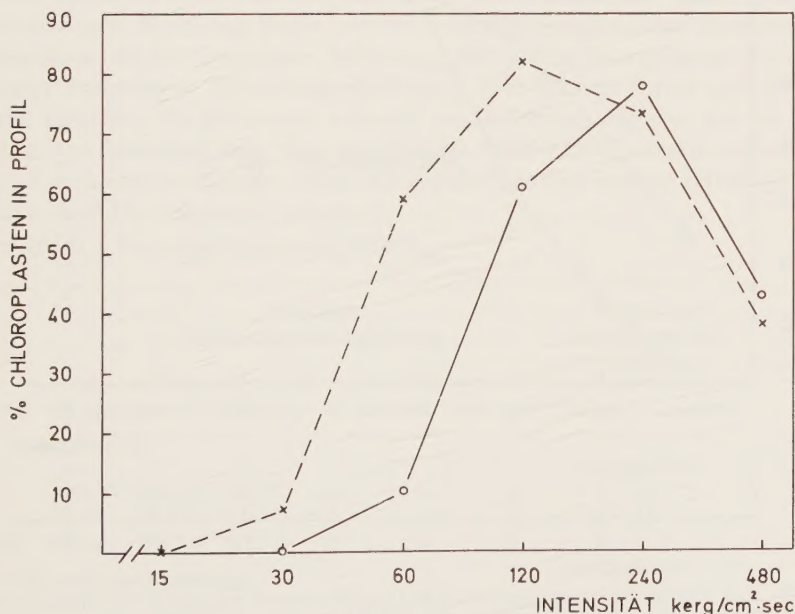


Abb. 3: Dosis-Effekt-Kurven der Starklichtbewegung im Weißlicht (Xenonlampe) mit und ohne DR-Sensibilisierung. 40 Minuten DR unmittelbar vor der Belichtung (x --- x); ohne DR-Vorbehandlung (o — o). Belichtungszeit einheitlich 20 Minuten.

Die Intensitätsschwelle der Starklichtbewegung liegt für Weißlicht (Xenonlampe), das sofort nach dem «Richten» gegeben wird, zwischen 30 und 60 Kerg/cm² · sec (Abb. 3). Nach Erreichen des Optimums (ca. 240 kerg/cm² · sec) fällt der Reaktionswert bei höheren Intensitäten wieder stark ab. Die Anwendung von Weißlichtintensitäten über 800 Kerg/cm² · sec führt zu Kontraktionen und Verkrümmungen der Chloroplasten.

Die sensibilisierende Wirkung einer Bestrahlung mit Dunkelrot (DR) zwischen «Richten» und Versuchsbelichtung, wie sie für *Mougeotia* gefunden wurde (SCHÖNBOHM, 1963), läßt sich auch für *Mesotaenium* nachweisen. Wie aus Abb. 3 hervorgeht, ist nach einer Sensibilisierung mit 40 min DR die Wirksamkeit von Weißlicht im ansteigenden Teil der Dosis-Effekt-Kurve etwa doppelt so groß. Bei den meisten weiteren Versuchen wurde deshalb eine DR-Sensibilisierung vorgenommen. Im Gegensatz zu *Mougeotia* (SCHÖNBOHM, 1963) konnte bei *Mesotaenium* jedoch nur eine unbedeutende

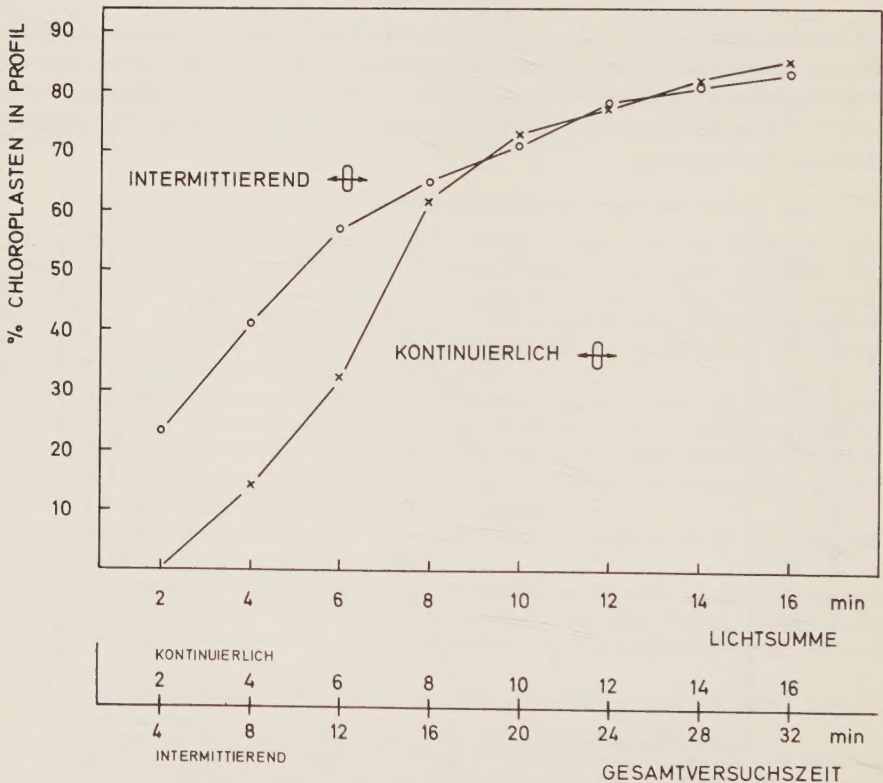


Abb. 4: Vergleich zwischen intermittierender Belichtung und Dauerlicht bei gleicher Lichtsumme. Intermittierende Belichtung: Periodisch 20 sec Licht und 20 sec Dunkel. Querschwingend polarisiertes Blaulicht (BG 7), Intensität 65 kerg/cm² · sec. DR-Sensibilisierung 40 min.

sensibilisierende Wirkung einer längeren Dunkelpause zwischen «Richten» und Versuchsbelichtung gefunden werden.

2. Die Starklichtbewegung bei intermittierender Belichtung

Bei der Schwachlichtbewegung von *Mesotaenium* (HAUPT und THIELE, 1961), wie auch bei der Starklichtbewegung von *Mougeotia* (SCHÖNBOHM, 1963), braucht das einseitige Licht nicht während des gesamten Bewegungsablaufs kontinuierlich zu wirken; ein geeigneter Licht-Dunkel-Wechsel («Intermittierende Belichtung») kann eine Bewegung gleichen Ausmaßes verursachen wie Dauerlicht. Durch die nachstehend beschriebenen Experimente soll festgestellt werden, in welchem Umfang diese Beobachtung auch für die Starklichtbewegung von *Mesotaenium* Gültigkeit hat. Eventuell kann daraus auf den Zeitbedarf von Sekundärprozessen geschlossen werden.

Die Versuche wurden mit polarisiertem Blaulicht durchgeführt, das sich in früheren Untersuchungen (HAUPT und GÄRTNER, 1966) als optimal wirksam erwiesen hatte, wenn sein E-Vektor quer zur Längsachse der Zelle orientiert ist.

Abb. 4 zeigt die Abhängigkeit der Reaktion von der Gesamtbelichtungszeit (= Lichtsumme) bei intermittierender und kontinuierlicher Bestrahlung mit der gleichen Intensität. Das Verhältnis Licht zu Dunkel des intermittierenden Lichtes betrug 20 zu 20 sec; bei gleicher Lichtsumme für beide Bestrahlungsarten war daher die Gesamtversuchsdauer im Falle des Licht-Dunkel-Wechsels doppelt so lang. Die Reaktionswerte bei intermittierender Belichtung liegen unterhalb des Sättigungsbereiches durchweg höher als diejenigen für kontinuierliche Belichtung. Die gleiche Energiemenge ist also bei geeigneter periodischer Bestrahlung wirksamer. Wir können daraus auf Sekundärprozesse schließen, die sich bereits während der Belichtung abspielen und die für die Reaktion von Bedeutung sind. Über den Zeitbedarf dieser Sekundärprozesse hoffen wir nähere Aufschlüsse zu erlangen, wenn wir die absolute und relative Dauer der einzelnen Licht- und Dunkelphasen variieren.

Es wurden 3 Versuchsgruppen verglichen:

Versuche: Intermittierende Belichtung		Kontrollen: Kontinuierliche Belichtung
Licht-Dunkel-Verhältnis	Relative Intensität	Relative Intensität
—	—	1/1
Licht : Dunkel = 2 : 1	1	2/3
Licht : Dunkel = 1 : 1	1	1/2
Licht : Dunkel = 1 : 2	1	1/3

Die Gesamtversuchsdauer betrug einheitlich 20 min. Dementsprechend war die Lichtsumme unterschiedlich groß. In Kontrollversuchen wurde deshalb jeweils die gleiche Gesamtenergie kontinuierlich statt intermittierend für die Dauer von 20 min eingestrahlt.

Hinsichtlich der Periodenlänge gibt es bei jeder der in Abb. 5 dargestellten Kurven einen Bereich, in dem der Reaktionswert für intermittierende Belichtung deutlich höher liegt als für kontinuierliche, obwohl in beiden Fällen gleiche Gesamtenergie eingestrahlt wurde. Nach Erreichen eines Maximums sinkt die Reaktionshöhe mit zunehmender

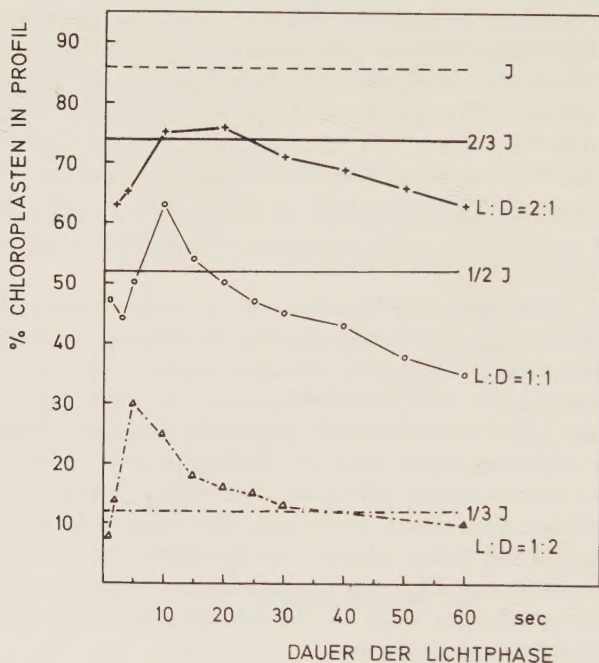


Abb. 5: Die Reaktion auf intermittierende Belichtung bei verschiedenem Licht-Dunkel-Verhältnis. Querschwingendes Blaulicht (BG 7). Intensität $I \triangleq 65 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$. Die waagrechten Linien geben die Reaktionswerte bei kontinuierlicher Belichtung mit gleicher Gesamtenergie wieder. DR-Sensibilisierung 40 min. Gesamtversuchsdauer konstant 20 min.

Periodenlänge, folglich auch abnehmender Frequenz des Hell-Dunkel-Wechsels, unter den Vergleichswert für kontinuierliche Belichtung ab. Das Reaktionsmaximum ist bei der unteren Kurve ($L:D = 1:2$) im Vergleich zu den beiden anderen Kurven nach kürzerer Dauer der Lichtphase hin verschoben. Die Dunkelphase beträgt jedoch im Maximum immer 10 sec.

Der Reaktionswert einer kontinuierlichen 20minütigen Bestrahlung mit der Intensität $I = 65 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$ (relative Intensität = 1) kann durch intermittierende Belichtung gleicher Intensität in keinem Fall erreicht werden.

3. Der Einfluß der Temperatur auf die Starklichtbewegung

a) Der Einfluß der Temperatur bei intermittierender Belichtung

Bei intermittierender Belichtung hat die Länge der Dunkelphase zwischen zwei Bestrahlungen Auswirkungen auf die Reaktionshöhe (vgl. Abb. 5). Wenn in dieser kurzen Zeit tatsächlich Dunkelprozesse ablaufen, die für die Reaktionsgröße von Bedeutung sind, so wäre eine Temperaturabhängigkeit dieser Prozesse zu erwarten. In diesem Fall müßte die Temperatur modifizierend auf den Einfluß wirken, den die Dauer der Dunkelphase hat.

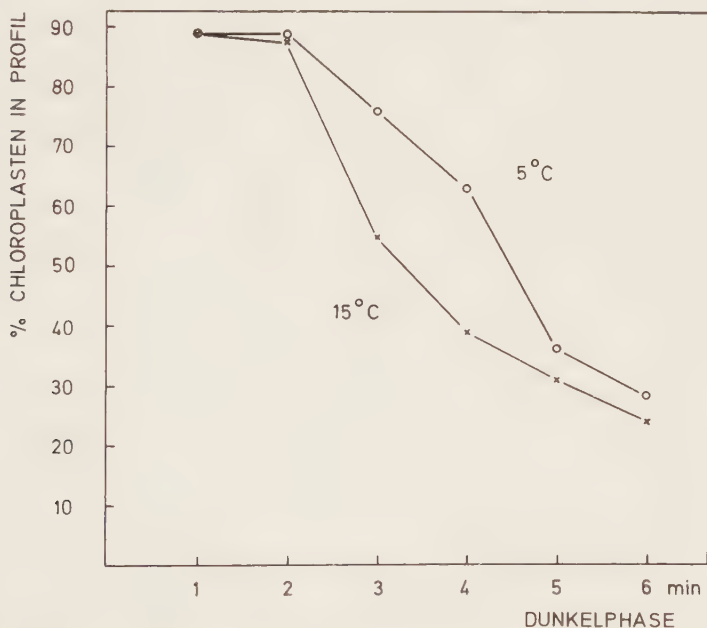


Abb. 6: Der Einfluß der Temperatur bei intermittierender Belichtung. Die Lichtphase betrug konstant 3 min, die Dunkelphase wurde variiert. Intensität des verwendeten Blaulichts (BG 7) bei 5° C 40 kerg/cm² · sec, bei 15° C 60 kerg/cm² · sec. Vor der Belichtung 1,5 Std. Temperaturangleichung im Dunkeln. Versuchsdauer 2,5 Std.

Zur Klärung dieses Problems wurden Versuche mit intermittierendem Licht bei 5° C durchgeführt. Die Lichtphase betrug einheitlich 3 min, die Dunkelphase wurde zwischen 1 min und 6 min variiert. Das in Abb. 6 wiedergegebene Kurvenpaar wurde bei einer Versuchszeit von 2,5 Stunden aufgenommen. Nach diesem Zeitraum ist die bei tiefer Temperatur stark verlangsamte Reaktion (s. u.) abgeschlossen. Das Versuchsergebnis zeigt, daß bei Verlängerung der Dunkelphase der Reaktionswert bei allen untersuchten Temperaturen absinkt, jedoch bei 5° C langsamer als bei 15° C. So liegt z. B. der Reaktionswert bei einer Dunkelphase von 4 min bei 5° C bedeutend höher als bei 15° C.

b) Der Einfluß der Temperatur auf den Intensitätsbedarf

Die Intensitätsschwelle und die Lichtsättigung der Starklichtbewegung liegen bei tieferen Temperaturen im Bereich niedrigerer Intensitäten. Dies geht deutlich aus den in Abb. 7 dargestellten Dosis-Effekt-Beziehungen hervor, die bei Temperaturen von 5° und 15° C mit kontinuierlicher Belichtung aufgenommen wurden; erfahrungsgemäß zeigt sich in diesem Bereich die Temperaturabhängigkeit physiologischer Prozesse am deutlichsten. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Dosis-Effekt-Kurve für 5° C ebenfalls den Verlauf einer Optimumkurve aufweist.

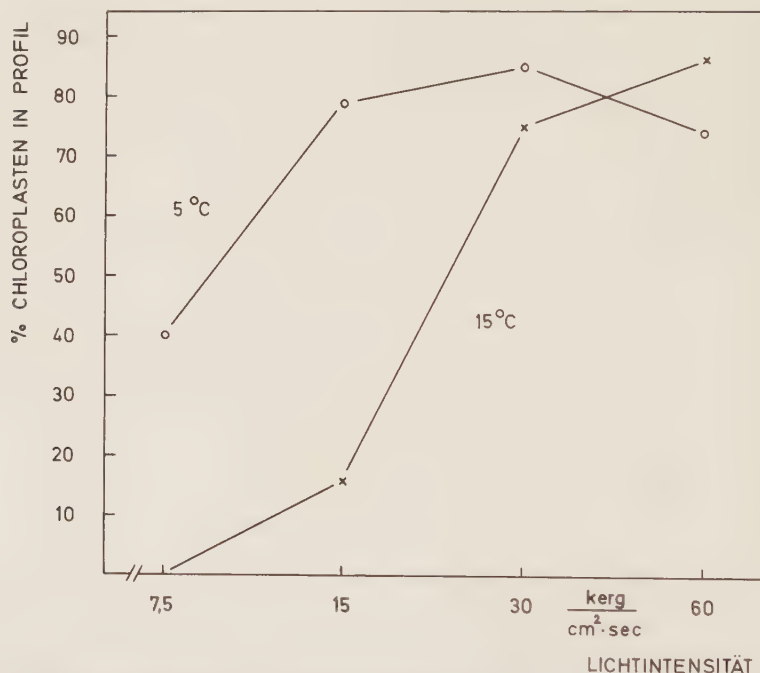


Abb. 7: Die Dosis-Effekt-Kurven der Starklichtbewegung bei verschiedener Temperatur. Unpolarisiertes Blaulicht (BG 7). DR-Sensibilisierung 30 min. Temperaturangleichung 60 min Dunkel. Belichtungszeit 70 min.

Die Intensitätsschwelle der Starklichtbewegung ist gleichbedeutend mit dem Umschlagpunkt zwischen Stark- und Schwachlichtbewegung. Die Temperaturabhängigkeit des Umschlagpunktes war schon an *Mougeotia*, *Lemna* und *Selaginella* nachgewiesen worden (WEISENSEEL, 1968 a). Mit der Methode dieses Autors konnte das bei *Mesotaenium* bestätigt werden (Abb. 8): Wird Blaulicht der Intensität 10 kerg/cm² · sec kontinuierlich längere Zeit eingestrahlt und lediglich die Versuchstemperatur in einem Intervall zwischen 5° C und 20° C variiert, so nehmen die Chloroplasten je nach der herrschenden Temperatur Kanten- oder Flächenlage ein.

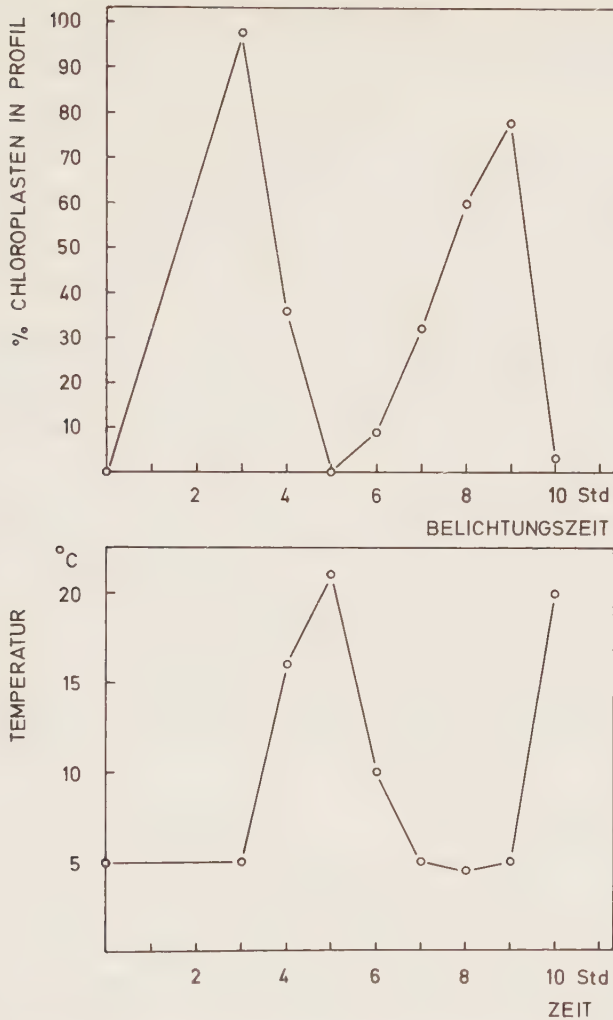


Abb. 8: Die Starklichtbewegung bei alternierender Temperatur und konstanter Lichtintensität. Unpolarisiertes Blaulicht (BG 7). Intensität $15 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$. 40 min DR-Sensibilisierung, gleichzeitig Temperaturangleichung. Die Belichtung wurde zur Auswertung jeweils ca. 2 min unterbrochen.

c) Der Einfluß der Temperatur auf die Bewegungsgeschwindigkeit

Die Bewegungsgeschwindigkeit des *Mesotaenium*-Chloroplasten ist nicht nur bei intermittierender Belichtung abhängig von der Temperatur (s. o.), sondern auch in kontinuierlichem Licht: Bei 15°C ist die Reaktion nach ca. 30 min abgeschlossen, bei 5°C hingegen erst nach 60 min. Aus den Halbwertszeiten – das sind diejenigen Zeiten, bei denen die Hälfte des maximalen Reaktionswertes erreicht ist – läßt sich zwischen 5°C und 15°C ein Q_{10} von 2,8 berech-

nen. Jedoch muß darauf geachtet werden, daß bei jeder Temperatur mit einer Lichtintensität aus dem Sättigungsbereich gearbeitet wird (vgl. Abb. 7). Analoge Ergebnisse wurden für *Mougeotia* gefunden (WEISENSEEL, 1968 b).

4. Der Einfluß von CO_2 auf die Geschwindigkeit der Chloroplastenbewegung im Starklicht

Außer dem Temperatur-Einfluß soll noch der Einfluß der CO_2 -Konzentration auf die Bewegungsgeschwindigkeit untersucht werden, da sich bei den Versuchen MOSEBACH's (1958) an *Mougeotia* Hinweise auf eine mögliche Abhängigkeit der Verlagerungsgeschwindigkeit der Chloroplasten vom CO_2 -Partialdruck ergeben hatten.

Eine Anreicherung der Nährlösung mit CO_2 ist quantitativ schwer kontrollierbar. Deshalb wurde das CO_2 über den Gasraum zugeführt. In eine 6 mm hohe Präparatekammer wurden am Boden 0,4 ml einer KHCO_3 -Lösung einpipettiert. Das Deckglas des Präparates wurde mit einer heißen Paraffin-Vaseline-Mischung dicht mit der Kammer verbunden. Die Versuchsbelichtung wurde 4 Stunden nach Zugabe der KHCO_3 -Lösung durchgeführt, da sich nach dieser Zeit mit Sicherheit ein konstanter CO_2 -Partialdruck eingestellt hatte.

Bei den Untersuchungen wurde festgestellt, daß die Geschwindigkeit der Chloroplastenverlagerung stark von der CO_2 -Konzentration abhängig ist. Bereits das von einer 0,6-molaren KHCO_3 -Lösung in den Gasraum entsandte CO_2 kann, wie in Abb. 9 dargestellt, die Starklichtbewegung erheblich verlangsamen. Dagegen hat eine 0,12-molare KHCO_3 -Lösung keinen verzögernden Einfluß mehr. Versuche mit niedrigeren Lichtintensitäten zeigen gleiche Tendenz im Kurvenverlauf.

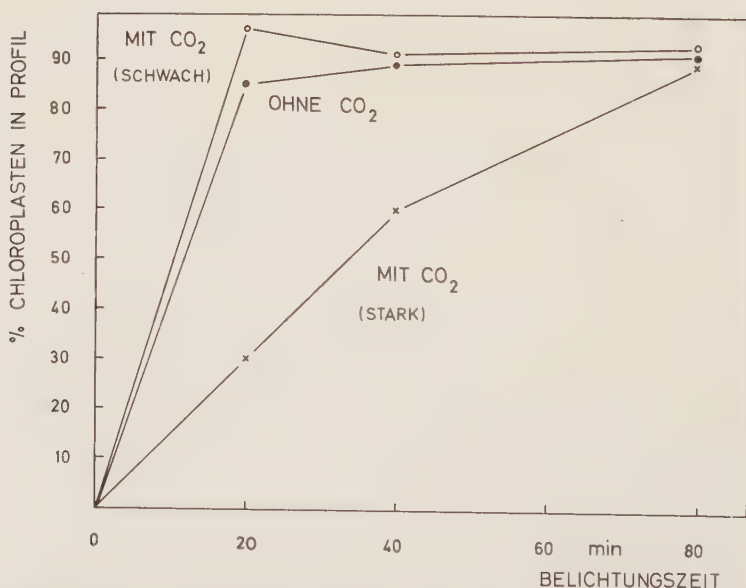


Abb. 9: Der Einfluß von CO_2 auf die Geschwindigkeit der Starklichtbewegung. Unpolarisiertes Blaulicht (BG 7), Intensität $65 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$. 40 min DR-Sensibilisierung. H_2O -Kontrolle (●—●); KHCO_3 -Lösung, 0,60 molar (×—×); 0,12 molar (○—○).

Die geschilderten Untersuchungen zum Einfluß von CO_2 könnten mit verschiedenen Fehlerquellen behaftet sein. Ergänzende Messungen (Tab. 1), zeigen, daß folgende Fehler entfallen:

Tabelle 1

Reaktionswerte in Abhängigkeit vom CO_2 -Partialdruck. Belichtung jeweils 20 min mit unpolarisiertem Blaulicht (BG 7), Intensität $60 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$. DR-Sensibilisierung 40 min.

Lösung in der Reaktionskammer	KHCO_3 0,6 m 1mal verwendet	KHCO_3 0,6 m 2mal verwendet	Glycerin : $\text{H}_2\text{O} = 1 : 4$	KOH 7 %	H_2O dest.
Reaktionswert	36 %	37 %	80 %	71 %	79 %

a) Die Abnahme der Bewegungsgeschwindigkeit kann nicht auf eine Verminderung des Wasserdampf-Partialdrucks zurückzuführen sein, da dieser über einer Mischung Glycerin : Wasser = 4 : 1 stärker reduziert ist als über der benutzten KHCO_3 -Lösung.

b) Die KHCO_3 -Lösung hält den CO_2 -Partialdruck über längere Zeit konstant, auch bei zweimaliger Verwendung.

Umgekehrt konnte nachgewiesen werden, daß eine vollkommene Entfernung von CO_2 aus dem Gasraum durch Absorption mittels 7 %iger KOH im Vergleich zur H_2O -Kontrolle nicht reaktionssteigernd wirkt.

Diskussion

Die bisherigen Ergebnisse haben einerseits die Grundlage geliefert, um in einer folgenden Arbeit den Primärprozeß der Reaktion näher untersuchen zu können (GÄRTNER, 1970). Andererseits wurden die Versuche mit dem Ziel durchgeführt, Einblick in die Sekundärreaktionen der Starklichtbewegung zu gewinnen. Hierzu sind nun genauere Aussagen möglich.

Die Experimente mit intermittierendem Licht zeigen, daß das Maximum des Reaktionswertes bei 20°C für alle untersuchten Licht-Dunkel-Verhältnisse konstant bei einer Dunkelphase von 10 sec liegt (vgl. Abb. 5). Dieser Zeitraum wird demnach von gewissen, die Reaktion begrenzenden *Sekundärprozessen* benötigt. Er könnte als «Refraktärzeit» des Systems bezeichnet werden. Aus den an *Mougeotia* erhaltenen Ergebnissen (SCHÖNBOHM, 1963) geht hervor, daß hier vergleichbare Folgereaktionen einen Zeitraum von ca. 20 sec benötigen. Ziemlich sicher wird ein erster, im Photoreceptor durch die Belichtung induzierter «Informationsgehalt» sofort in ein chemisches Ungleichgewicht (Gradient) verwandelt. Die Tatsache, daß mit intermittierender Belichtung in bestimmten Fällen höhere Reaktionswerte erhalten werden als mit Dauerlicht (vgl. Abb. 4), könnte folgendermaßen erklärt werden: Möglicherweise wird dem Photoreceptor im Dauerlicht mehr Energie zugeführt, als er während der Belichtung zur Auslösung der Sekundärprozesse weitergeben kann; die angebotene Energie ist dann vollständig nutzbar, wenn die Belichtung in Teilinduktionen aufgelöst wird. Allerdings ist dabei folgendes zu berücksichtigen: Wenn bei gleicher Intensität die insgesamt eingestrahelte Lichtenergie konstant gehalten wird (Abb. 4), steht dem Chloroplasten im intermittierenden Licht notwendigerweise mehr Zeit für den Bewegungs-

ablauf zur Verfügung als im kontinuierlichen. Wird dagegen, bei ebenfalls konstanter Gesamt-Lichtenergie, die Dauer des Versuches für intermittierende und kontinuierliche Bestrahlung gleich gehalten (Abb. 5; paarweise gleich signierte Kurven und Linien), so muß die Intensität im intermittierenden Licht höher sein.

Voraussetzung für eine Bewegung des Chloroplasten ist offensichtlich die Aufrechterhaltung eines Gradienten durch ständige oder in kurzen Zeitintervallen erfolgende Belichtung, da der Reaktionswert bei zu langen Dunkelpausen bzw. kurz nach Beendigung einer Dauerbelichtung schnell zu fallen beginnt. Dies berechtigt zu der Vermutung, daß *gegenläufige Reaktionen* (Zeitbedarf > 10 sec) einen Abbau des Gradienten bewirken (vgl. WEISENSEEL, 1968a). Das Ergebnis der Versuche mit intermittierender Belichtung zeigt, daß bei tiefer Temperatur das «Gedächtnis» für einen Lichtreiz besser ist, d. h. daß die Nivellierung des chemischen Gradienten verzögert wird. Eine bei tiefer Temperatur verlangsamte «Rückreaktion» würde auch die Temperaturabhängigkeit des Intensitätsbereiches der Starklichtbewegung (vgl. Dosis-Effekt-Kurven Abb. 7) erklären. Je langsamer der Abbau des Gradienten erfolgt, desto weniger Energie muß zu seiner Aufrechterhaltung nachgeliefert werden (vgl. WEISENSEEL, 1968 a).

Der eigentliche *Bewegungsvorgang* kann als späte Folgereaktion aufgefaßt werden, die das Ergebnis konkurrierender zeitabhängiger Sekundärreaktionen ist. In Übereinstimmung mit den Befunden von WEISENSEEL (1968 b) an *Mougeotia* erwies sich die Verlagerungsgeschwindigkeit des *Mesotaenium*-Chloroplasten im untersuchten Bereich als temperaturabhängig. Die Verzögerung der Bewegung bei tieferen Temperaturen ist durch die Verlangsamung begrenzender chemischer Folgeprozesse zu erklären.

Für die Verringerung der Bewegungsgeschwindigkeit des *Mesotaenium*-Chloroplasten durch steigenden CO_2 -Partialdruck sind eventuell Viskositäts erhöhungen verantwortlich. MOSEBACH (1958) machte bei *Mougeotia* ähnliche Beobachtungen; quantitative Ergebnisse, die mit den an *Mesotaenium* ermittelten vergleichbar wären, liegen jedoch nicht vor.

Sämtliche Dosis-Effekt-Kurven der Starklichtbewegung des *Mesotaenium*-Chloroplasten nähern sich nicht asymptotisch einer Sättigungsgrenze, sondern haben den Verlauf von Optimumkurven. Die Aufklärung dieser Erscheinung ist von einer genaueren Analyse der Primärprozesse zu erhoffen. Ebenfalls in Zusammenhang mit den Primärprozessen dürfte die sensibilisierende Wirkung einer DR-Vorbehandlung auf die Starklichtbewegung des *Mesotaenium*-Chloroplasten stehen. Dadurch erhielten wir erste Hinweise für eine möglicherweise indirekte Mitwirkung des Phytochrom-Systems bei der Lichtperception für die Starklichtbewegung.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Literatur

- DORSCHIED, T., und WARTENBERG, A.: *Planta* (Berlin) 70, 187–192 (1966).
 GÄRTNER, R.: in Vorbereitung (1970).
 HAUPT, W.: *Planta* (Berlin) 53, 484–502 (1959).
 – F. Bot. 31, 164–168 (1969).

HAUPT, W., und GÄRTNER, R.: *Naturwissenschaften* 53, 411 (1966).

HAUPT, W., und THIELE, R.: *Planta* (Berlin) 56, 388–401 (1961).

MOSEBACH, G.: *Planta* (Berlin) 52, 3–46 (1958).

PRINGSHEIM, E. G.: *Arch. f. Mikrobiol.* 45, 140 (1963).

SCHÖNBOHM, E.: *Z. Bot.* 51, 233–276 (1963).

SENN, G.: *Wilhelm Engelmann*, Leipzig (1908).

WEISENSEEL, M.: *Z. Pflanzenphysiol.* 59, 56–69 (1968 a).

– *Z. Pflanzenphysiol.* 59, 153–171 (1968 b).

Dr. RAIMUND GÄRTNER, Botanisches Institut der Universität, 852 Erlangen, Schloßgarten 4.

Botanisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Die Bewegung des *Mesotaenium*-Chloroplasten im Starklichtbereich

II. Aktionsdichroismus und Wechselwirkungen des Photoreceptors mit Phytochrom*)

RAIMUND GÄRTNER

Mit 13 Abbildungen

Eingegangen am 20. Mai 1970

*) 2. Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.

Summary

The chloroplast movement of *Mesotaenium* in high intensity light

II. Action dichroism and interaction of the photoreceptor with phytochrome

The orientation movement of the chloroplast to unilateral light of high intensity, i. e. turning from face to profile position is induced by short wavelengths only (fig. 6). Maximum sensitivity is found at about 450 nm, no response is obtained above 500 nm; near ultraviolet (366 nm) has a very small but significant effect. FMN which has been found with paper chromatography in extracts of *Mesotaenium* (fig. 7) is supposed to be the photoreceptor.

Using linearly polarized light, a strong action dichroism has been demonstrated: response is induced only, if the electrical vector of the light is perpendicular to the cell axis (fig. 1). Parallel vibrating light, however, is not completely ineffective; instead it can decrease or increase the response depending on the experimental conditions: a) Inhibition of response is observed if parallel vibrating light is given simultaneously with the inducing cross vibrating light; the same holds true if short irradiations of both lights are given alternately (fig. 3). b) If response has been established by cross vibrating light, after-irradiation with parallel vibrating light returns the chloroplast to the original face position (fig. 4); this effect depends on the intensity of parallel vibrating light (fig. 5). c) If parallel vibrating blue light, given simultaneously with cross vibrating inducing blue, has much less intensity than the inducing one, response is increased (fig. 12).

Red light, given together with blue, increases the blue light response, the maximum effect being found in the region of 650 nm (fig. 8). This effect is far-red reversible (fig. 11). If blue and red are given as polarized light, at least one of both has to have the electrical vector perpendicular to the cell axis; maximum effectiveness is obtained with one of both vibrating perpendicularly and the other parallel (fig. 9). If the sensitivity is increased by low temperature, red light cannot increase it further (fig. 10).

The increasing effect of red light can be replaced by irradiation with low intensity blue light simultaneously with high intensity blue light, provided the electrical vectors are normal to each other (fig. 12).

It is concluded that the response in question is the result of light absorption in two different photoreceptors acting together.

Zusammenfassung

Die Starklichtbewegung des *Mesotaenium*-Chloroplasten hat ein Wirkungsspektrum, das auf ein Flavin als Photoreceptor schließen läßt. Ein ausgeprägter Aktionsdichroismus deutet auf dichroitische Orientierung des Photoreceptors. Lichtabsorption im Phytochrom ($P_{660} \rightarrow P_{730}$) erhöht die Reaktion auf Blaulicht beträchtlich, wobei die Orientierung der Schwingungsrichtung polarisierten Lichts wiederum von größter Bedeutung ist. Der Phytochromeffekt kann unter bestimmten Bedingungen auch durch schwaches Blaulicht ersetzt werden, das für sich allein die Reaktion nicht auslösen kann.

Einleitung

Lichtreaktionen, die von der Orientierung der Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes bestimmt werden, konnten in den meisten daraufhin untersuchten Fällen auf den Dichroismus der Photoreceptormoleküle zurückgeführt werden (vgl. BOCK und HAUPT, 1961; JAFFE und ETZOLD, 1962; ZURZYCKI, 1967). Dieser «Aktionsdichroismus» ist bedingt durch optimale Absorption des polarisierten Lichtes, die dann erfolgt, wenn die Schwingungsebene des E-Vektors in der Richtung der Hauptübergangsmomente der Photoreceptormoleküle liegt.

Frühere Untersuchungen zur Starklichtbewegung¹⁾ des *Mesotaenium*-Chloroplasten (GÄRTNER, 1970) haben weitgehend qualitative Übereinstimmungen im Mechanismus und in den Sekundärprozessen der Starklichtreaktion mit *Mougeotia* ergeben. Allerdings lieferten erste Experimente an *Mesotaenium* mit polarisiertem Licht (HAUPT und GÄRTNER, 1966) auch Hinweise auf wesentliche Unterschiede im Verhalten beider Objekte. Deshalb sollten nun die Primärprozesse der Chloroplastenverlagerung bei *Mesotaenium* näher untersucht werden; dabei wird insbesondere nach der Orientierung und Natur der für die Starklichtbewegung verantwortlichen Photoreceptormoleküle, ferner auch nach deren Wechselwirkungen mit dem für die Schwachlichtbewegung verantwortlichen Phytochromsystem (vgl. SCHÖNBOHM, 1965 und 1966 bei *Mougeotia*) gefragt werden.

Material und Methode

Als Versuchspflanze wurde *Mesotaenium caldariorum* aus der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen (Kultur Nr. 648-1) verwendet. Die einzelligen Algen wurden in feuchthaltenden Präparatekammern am Deckglas hängend mit Hilfe von Cellophan festgelegt. Durch senkrecht einfallendes Weißlicht (1000 Lux) wurden die plattenförmigen Chloroplasten aller Zellen so «gerichtet», daß sie dem Licht die Fläche darboten. Anschließend wurden die Algen bei den meisten Versuchen zum Zwecke der Sensibilisierung 40 min mit Dunkelrot bestrahlt. Als Lichtquellen für die Versuchsbelichtungen dienten Xenonhochdrucklampen (XBO 162 und XBO 501, Fa. Osram), Quecksilberhochdrucklampen (HBO 200, Fa. Osram), eine Sterilisationslampe (Hanau) und Liesegang-Projektoren (Fanti 300). Zur Erzeugung monochromatischer Strahlung wurden Interferenzband- und Interferenzlinienfilter benutzt (Schott, Mainz; Typen AL und IL). Für breitere Spektral-

¹⁾ Starklichtbewegung («negative Phototaxis») — Drehung aus Flächen- in Kantenstellung, im Weißlicht verursacht durch hohe Intensität. Schwachlichtbewegung («positive Phototaxis») = Drehung aus Kanten- in Flächenstellung, im Weißlicht verursacht durch niedere Intensität.

bereiche wurden die Schott-Glasfilter BG 7 (Blau), RG 9 (Dunkelrot), UG 1 (UV) sowie als grünes Sicherheitslicht die Kombination GG 14 + BG 18 + KG 1 verwendet. Für Doppelbelichtungen diente ein Farbteilungsspiegel (Firma Balzers, Liechtenstein), der unter 45° Blaulicht (450 nm) reflektiert, Rotlicht (665 nm) durchläßt. Die Lichtintensität wurde entweder durch Graugläser NG 11 (Schott) oder durch Veränderung des Abstandes Präparat-Lichtquelle abgestuft. Zur Bestrahlung mit polarisiertem Licht wurde die Polarexfolie W 68 - UV (Firma Kasemann, Oberaudorf Inn) herangezogen. Die Dauer einer Versuchsbelichtung betrug 20 min, soweit nicht andere Werte angegeben sind; nach dieser Zeit ist unter normalen Bedingungen die Bewegung in allen Intensitätsbereichen abgeschlossen (GÄRTNER, 1970). Im allgemeinen betrug die Versuchstemperatur 20°C . Bei der Auswertung der belichteten Präparate im Mikroskop unter Sicherheitslicht wurde der Prozentsatz von Chloroplasten, die Kantenstellung eingenommen hatten, bestimmt.

Weitere Einzelheiten über Anzucht der Algen und Versuchsdurchführung wurden bereits früher mitgeteilt (GÄRTNER, 1970).

Experimenteller Teil

I. Die Wirkung des polarisierten Lichtes

1. Dosis-Effekt-Kurven der Starklichtbewegung im polarisierten Licht

Da die bisher an *Mesotatenum* gewonnenen Ergebnisse (GÄRTNER, 1970) qualitativ weitgehend mit *Mougeotia* übereinstimmen, erwarteten wir bei den Untersuchungen mit polarisiertem Licht keine andersartigen Befunde. Die Dosis-Effekt-Kurven für polarisiertes Blaulicht¹⁾ (Abb. 1) zeigen jedoch, daß in keinem Intensitätsbereich eine Reaktion induziert werden kann, wenn der E-Vektor parallel zur Zelle orientiert ist

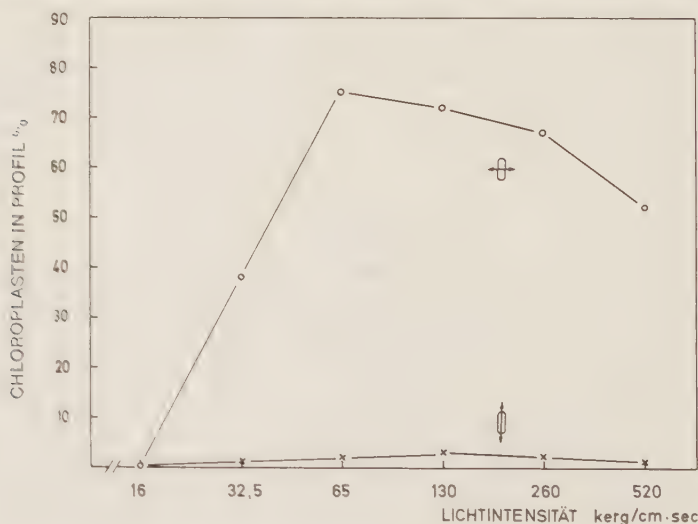


Abb. 1: Dosis-Effekt-Kurven für linear polarisiertes Blaulicht (BG 7). E-Vektor des polarisierten Lichtes quer bzw. parallel zur Längsachse der Zelle (obere bzw. untere Kurve).

¹⁾ Über die Reaktion auf Blaulicht vgl. Abb. 6.

(«längsschwingend»), während bei *Mougeotia* gerade *längsschwingendes* Blaulicht besonders wirksam ist (SCHÖNBOHM, 1963). Im querschwingenden Licht gleicht die Dosis-Effekt-Kurve derjenigen im unpolarisierten Licht (GÄRTNER, 1970): Oberhalb eines Intensitätsoptimums, bei dem maximale Reaktion erreicht wird, fällt die Kurve wieder ab.

Der absteigende Teil der Dosis-Effekt-Kurve könnte bedeuten, daß hier die Reaktionsfähigkeit durch die hohe Intensität gestört ist, so daß die Chloroplastendrehung nicht mehr in allen Zellen möglich ist. Die in Abb. 2 dargestellten Versuche zeigen

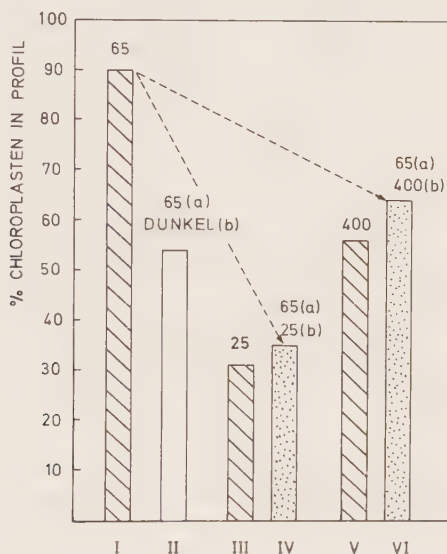


Abb. 2: Der Abfall des Reaktionswertes durch Zweitbestrahlung mit unter- bzw. überoptimalen Starklichtintensitäten. Blaulicht (BG 7), querschwingend. Dauer jeder einzelnen Bestrahlung 20 min. Unter a sind jeweils die Intensitäten der ersten, unter b der zweiten Bestrahlung in $\text{kerge}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ angegeben. Die Pfeile verdeutlichen den durch Zweitbestrahlung verursachten Rückgang des Reaktionswertes.

jedoch, daß die Beweglichkeit der Chloroplasten auch bei überoptimalen Intensitäten noch erhalten ist. Wird zunächst durch optimale Intensität ein hoher Prozentsatz von Profillagen eingestellt (I), so führt anschließende Bestrahlung mit unter- oder überoptimaler Intensität (IV, VI) zur Rückdrehung in einem Teil der Zellen; der so erhaltene Reaktionswert entspricht demjenigen der Dosis-Effekt-Kurve, bei der als Ausgangsstellung Flächenstellung vorlag (III, V; vgl. auch Abb. 1).

2. Die Wirksamkeit von unpolarisierter und polarisierter Strahlung

Querschwingende Strahlung besitzt im Vergleich zu unpolarisierter wesentlich höhere Wirksamkeit. Um einen Reaktionswert von annähernd gleicher Höhe zu erreichen (47 % bzw. 52 %), wird bei unpolarisiertem Licht im Gegensatz zu polarisiertem Licht

etwa die doppelte Intensität benötigt (80 bzw. $40 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$). Dies wird verständlich, wenn man zugrunde legt, daß im unpolarisierten Licht anteilmäßig nur halb so viel wirksame querschwingende Strahlung enthalten ist wie in reinem querschwingen-

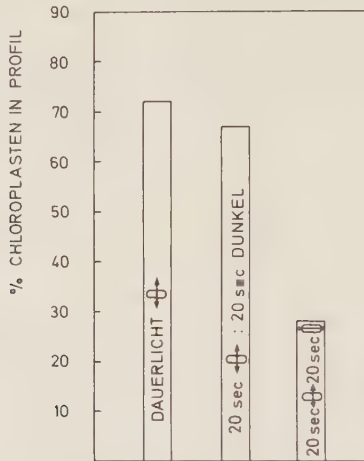


Abb. 3: Die hemmende Wirkung längsschwingenden Starklichts bei intermittierender Bestrahlung. Versuchsdauer einheitlich 15 min. Intensität: Konstant $65 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$ (BG 7), polarisiert; querschwingend kontinuierlich, im Wechsel mit Dunkel oder im Wechsel mit längsschwingend.

den Licht gleicher Intensität. Ob darüber hinaus längsschwingende Strahlung der Induktion durch querschwingende entgegenwirkt, soll im folgenden untersucht werden.

Wird die Bestrahlung während einer Gesamtversuchsdauer von 15 min abwechselnd 20 sec quer- und 20 sec längsschwingend durchgeführt, so läßt sich nachweisen, daß längsschwingendes Starklicht die Bewegung hemmt (Abb. 3): Der Reaktionswert liegt deutlich tiefer als die entsprechenden Kontrollen.

3. Die «rückdrehende» Wirkung längsschwingenden Starklichts

Unter bestimmten Voraussetzungen könnte längsschwingendes Starklicht vielleicht sogar zu antagonistischer Reaktion führen, d. h. zum Verlassen der Kantenstellung, so wie bei der Schwachlichtbewegung von *Mougeotia* eine «Inversion» der Bewegungsrichtung durch längsschwingendes Licht gefunden wurde (FISCHER, 1963). Der folgende Versuch gibt hierüber Auskunft:

Auf die Fläche des Chloroplasten wird 20 min querschwingendes Blaulicht eingestrahlt (normale Versuchsbestrahlung) und sofort oder nach 20 min Dunkelpause die Reaktion ausgewertet (Kontrollen b, c in Abb. 4). Wird statt der anschließenden Dunkelpause ebenso lang längsschwingendes Blaulicht eingestrahlt (a), so ist die Reaktion gegenüber den Kontrollen drastisch herabgesetzt. Ergänzend wurde auch längsschwingendes Blau vor der Versuchsbestrahlung gegeben (d), wodurch ebenfalls eine gewisse Reaktionsminderung gegenüber den entsprechenden Kontrollen (b, e) erreicht wurde.

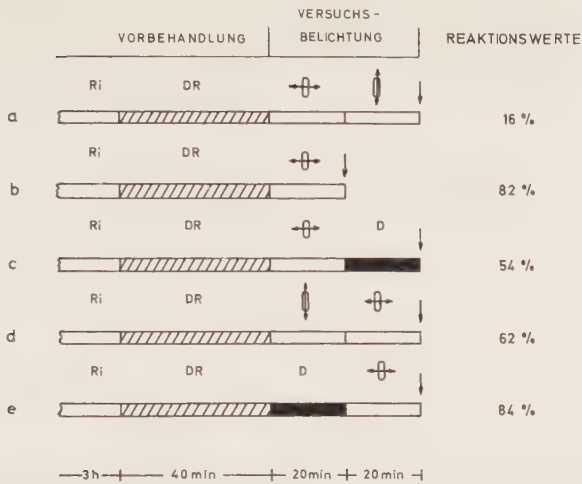


Abb. 4: Die rückdrehende Wirkung längsschwingenden Starklichts. Versuchsprogramm: Richten in Flächenstellung (Ri); Sensibilisierung durch Dunkelrot (DR); Versuchsbelichtung quer- und längsschwingend, entsprechend den Symbolen. Pfeil = Zeitpunkt der Auswertung.

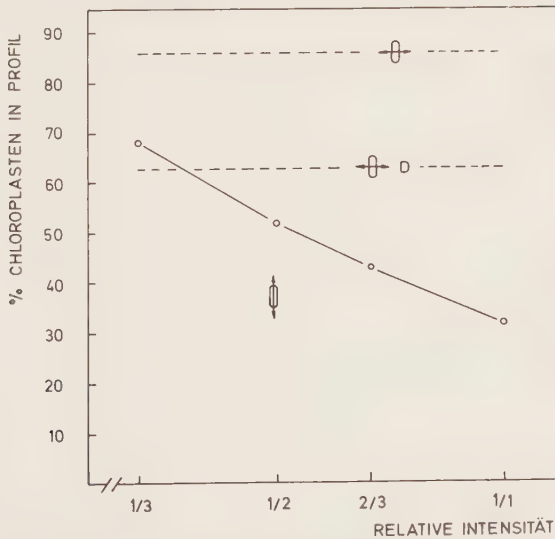


Abb. 5: Die Intensitätsabhängigkeit der rückdrehenden Wirkung längsschwingenden Starklichts. Reaktion auf querschwingendes Blaulicht allein, sofort bzw. nach einer Dunkelpause von 20 min ausgewertet (obere bzw. untere gestrichelte Linie). Anschließend an die erste Bestrahlung längsschwingendes Blau mit der gleichen oder verminderter Intensität (ausgezogene Kurve). Blaulicht (BG 7), volle Intensität = $65 \text{ kerg/cm}^2 \cdot \text{sec}$.

Während jedoch dieser letztgenannte Versuch lediglich einen hemmenden Einfluß auf die Wirksamkeit der folgenden Induktionsbestrahlung andeutet, zeigt der erstgenannte Versuch (a) eine echte rückdrehende Wirkung der längsschwingenden Strahlung, die wir als «Inversion der Starklichtbewegung» bezeichnen könnten. Diese rückdrehende Wirkung soll noch durch zwei weitere experimentelle Befunde gezeigt werden.

a) Zunächst wurden die Chloroplasten mit querschwingendem Starklicht in Profilstellung gebracht und anschließend mit längsschwingendem Starklicht gleicher oder geringerer Intensität bestrahlt. Dabei erweist sich die rückdrehende Wirkung als intensitätsabhängig (Abb. 5).

β) Längsschwingendes Starklicht dreht den Chloroplasten auch dann in Flächenstellung zurück, wenn die Kantenstellung nicht durch Starklicht von oben, sondern durch Schwachlicht von der Seite hervorgerufen worden war.

II. Die Frage nach dem Photoreceptor der Starklichtbewegung

1. Das Aktionsspektrum der Starklichtbewegung

Das Aktionsspektrum einer photobiologischen Reaktion erlaubt in vielen Fällen Rückschlüsse auf die stoffliche Natur des Photoreceptors. In jüngster Zeit wurden die Aktionsspektren der Chloroplastenbewegung verschiedener Objekte aufgenommen. Für die Starklichtbewegung bei *Vaucheria* (HAUPT und SCHÖNFELD, 1962), *Lemna* (ZURZYCKI, 1962), *Mougeotia* (SCHÖNBOHM, 1963) und *Selaginella* (MAYER, 1964) erwiesen sich der Spektralbereich zwischen 400 und 500 nm und das nahe UV als wirksam.

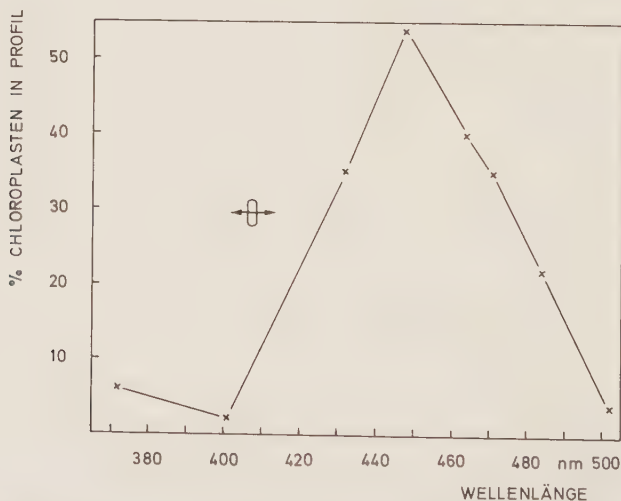


Abb. 6: Das Wirkungsspektrum der Starklichtbewegung (Reaktion auf quantengleiche Bestrahlung mit verschiedenen Wellenlängen). Querschwingendes Licht. Intensität bei 448 nm 30 kerg/cm² · sec.

Zur Ermittlung eines Wirkungsspektrums für *Mesotaenium* wurden in vereinfachender Weise die Reaktionen nach Belichtungen mit gleicher Quantenstromdichte ($\text{Quanten}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$) bei verschiedenen Wellenlängen aufgenommen (HAUPT und GÄRTNER, 1966). Da das Reizmengengesetz nicht gültig ist, wurde die Quantengleichheit nur durch Intensitätsabstufung eingestellt. Um mit dieser Methode ein gültiges Aktionsspektrum zu erhalten, müssen zwei Bedingungen erfüllt sein:

a) Bei allen Wellenlängen muß im ansteigenden Teil der Dosis-Effekt-Kurve gearbeitet werden (vgl. Abb. 1); durch Vorversuche konnte dies sichergestellt werden.

b) Die Steigung der Dosis-Effekt-Kurven muß für alle Wellenlängen gleich sein; andernfalls würde das Aktionsspektrum je nach Wahl des Parameters sehr unterschiedliche Gestalt haben (STEINER, 1969). Orientierende Versuche zeigten, daß diese Bedingung erfüllt ist.

Ein deutliches Maximum des Reaktionswertes liegt bei 450 nm (Abb. 6). Wellenlängen oberhalb 500 nm sind nicht in der Lage, die Starklichtbewegung zu induzieren. Im nahen UV-Bereich zeigt sich um 370 nm ein äußerst geringer Anstieg. Durch eingehende Untersuchungen mit sehr hohen Intensitäten konnte erwiesen werden, daß der Reaktionswert bei 366 nm signifikant verschieden von Null ist. Kürzerwelliges UV (geprüft bis 254 nm) ist im Sinne der Starklichtbewegung unwirksam.

Nach dem dargestellten Wirkungsspektrum muß ein gelbes Pigment als Photoreceptor in Betracht gezogen werden.

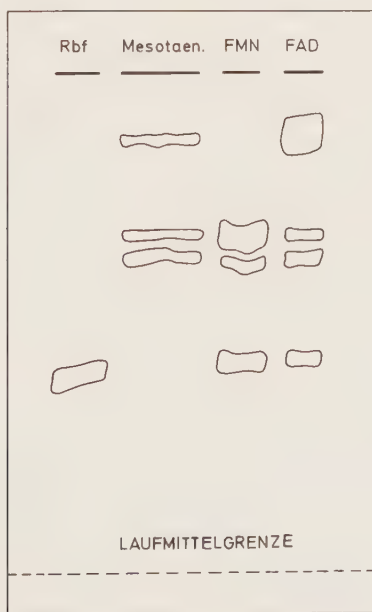


Abb. 7: Chromatogramm der *Mesotaenium*-Flavine im Vergleich zu Riboflavin, FMN und FAD.

2. Das Chromatogramm des Flavinextrakts¹⁾

Auf chromatographischem Wege sollte festgestellt werden, welche Flavine *Mesotaenium* enthält, da diese immer wieder als Photoreceptorsubstanzen wahrscheinlich gemacht worden sind.

Zur Herstellung eines Flavinextrakts (verändert nach ZENK, 1964) wurde das abfiltrierte Algenmaterial von 20 Petrischalen verwendet. Die 15 min dauernde Extraktion wurde mit 200 ml 70 %igem Alkohol im Rückflußkühler bei 80° C durchgeführt. Der Extrakt wurde filtriert, das Filtrat in einem Vacuum-Rotationsverdampfer bei 80° C bis fast zur Trockene eingengt, dann mit 3 ml Aqua dest. aufgenommen und neuerlich filtriert. Die gewonnene Lösung enthält die Flavine; sie wurde absteigend, zusammen mit FAD, FMN und Riboflavin als Testsubstanzen, auf Papier (SCHLEICHER und SCHÜLL, WHATMAN Nr. 3) chromatographisch getrennt. Als Laufmittel diente ein Gemisch von Butanol: Eisessig : Wasser = 5 : 1 : 2,2. Die Laufzeit betrug 18 Std.

Alle Arbeiten vom Beginn der Extraktion an wurden bei Rotlicht durchgeführt, um eine Photooxydation der Flavine zu vermeiden.

In Abb. 7 ist das Chromatogramm dargestellt. Das Ergebnis zeigt, daß Riboflavin bei *Mesotaenium* völlig fehlt. Hingegen sind FAD und eventuell auch FMN vorhanden.

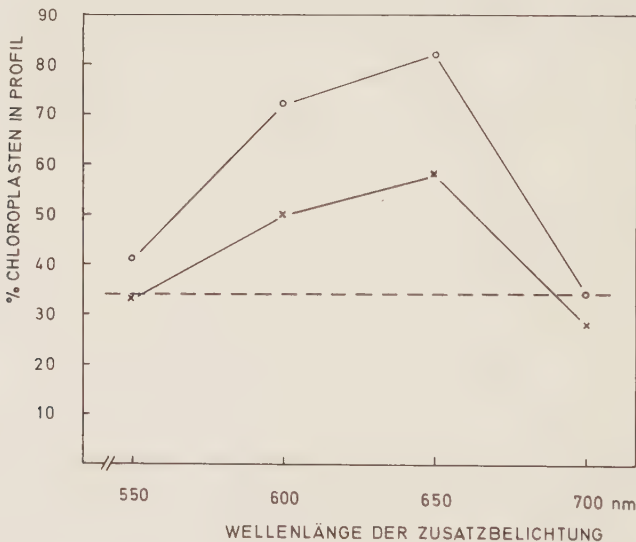


Abb. 8: Die reaktionsfördernde Wirkung langwelliger Strahlung bei der Starklichtbewegung. Intensität des unpolarisierten Blaulichts (450 nm) konstant 23 000 erg/cm² · sec. Langwellige Strahlung untereinander quantengleich; Intensität bei 550 nm: 500 erg/cm² · sec (untere Kurve) bzw. 4000 erg/cm² · sec (obere Kurve). Die unterbrochene Linie gibt den Reaktionswert bei alleiniger Blaubestrahlung an. DR-Sensibilisierung 30 min. Belichtungszeit 15 min.

¹⁾ Für die Unterstützung bei den chromatographischen Arbeiten gilt Herrn Dr. F. MAYER mein besonderer Dank.

III. Die Mitwirkung von Phytochrom bei der Starklichtbewegung

Rotlicht hat bei *Mougeotia* einen entscheidenden Einfluß auf die Starklichtbewegung (SCHÖNBOHM, 1965 und 1966). Auch bei *Mesotaenium* wird die Reaktion durch HR und DR¹⁾ stark modifiziert, wie die folgenden Versuche zeigen.

1. Die Wirkung unpolarisierter langwelliger Strahlung bei gleichzeitiger unpolarisierter Blaubelichtung

Bei gleichzeitiger senkrechter Einstrahlung von Blaulicht (450 nm) und unpolarisierter Strahlung aus dem Bereich 550–700 nm kann die Starklichtreaktion merklich gesteigert werden, solange die Blaulicht-Intensität im ansteigenden Teil der Dosis-Effekt-Kurve liegt. Optimal ausgeprägt ist die reaktionsfördernde Wirkung bei ca. 650 nm, wie die in Abb. 8 dargestellten orientierenden Versuche zeigen. Bemerkenswert ist dabei, daß die Intensität des Rotlichts erheblich niedriger als die des Blaulichts ist.

Das bereits beschriebene Wirkungsspektrum der Starklichtbewegung erfährt keine grundlegende Veränderung, wenn zusätzlich zu quantengleichem Licht verschiedener Wellenlängen gleichzeitig HR eingestrahlt wird. Für alle wirksamen Wellenlängen zeigt sich der reaktionssteigernde Effekt, d. h. die Schwellenintensität des Blaulichts wird herabgesetzt.

2. Die Starklichtbewegung bei Doppelbestrahlung mit polarisiertem Blau und polarisiertem Hellrot

In Abb. 9 sind die Dosis-Effekt-Kurven der wirksamen Blaubestrahlung mit und ohne gleichzeitige HR-Zusatzbestrahlung konstanter Intensität dargestellt. Dabei wurden alle möglichen Kombinationen von quer und längs orientierter Schwingungsrichtung beider Bestrahlungen durchgeprüft.

Im Vergleich zur Blaulichtkontrolle (e) tritt durch HR stets eine Sensibilitätssteigerung auf, wobei längsschwingendes HR bemerkenswerterweise viel wirksamer ist als querschwingendes (vgl. b mit a). Noch interessanter ist aber, daß die für sich allein völlig unwirksame längsschwingende Blaustrahlung (f) zusammen mit der ebenfalls unwirksamen querschwingenden HR-Strahlung zu maximaler Reaktion führt (c). Dieser letztgenannte Effekt entspricht genau den Ergebnissen SCHÖNBOHMS an *Mougeotia*, nicht dagegen das Zusammenwirken von Blau quer mit HR längs (b). Die Reaktion ist offenbar immer dann maximal, wenn eine der beiden Bestrahlungen längs- und eine querschwingend polarisiert ist.

Die Doppelbelichtungsprogramme b und c wurden auch bei einer Temperatur von 2° C durchgeführt, wodurch die Intensitätsschwelle für Blaulicht allein stark herabgesetzt wird (GÄRTNER, 1970).

Auf Grund der bei tiefer Temperatur stark verlangsamten Bewegungsgeschwindigkeit mußte die Belichtungszeit auf das ca. Vierfache erhöht werden (vgl. GÄRTNER, 1970).

¹⁾ HR = Hellrot, < 700 nm, im folgenden stets 665 nm; DR = Dunkelrot, > 700 nm, im folgenden stets breiter Spektralbereich mit RG 9.

Eine nennenswerte Reaktionssteigerung gegenüber der Blaulichtkontrolle ließ sich jetzt nicht mehr erzielen (Abb. 10). Durch die niedrigere Temperatur wurde also nur die Blaukurve verschoben, während die Kurven der kombinierten Bestrahlungen nicht

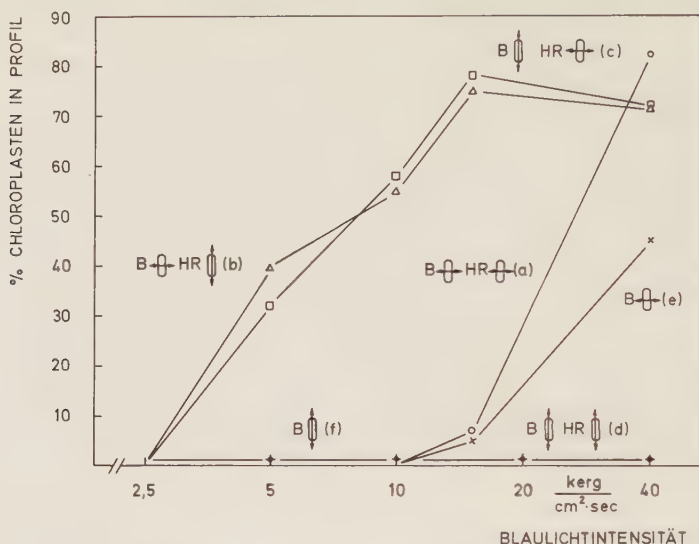


Abb. 9: Die Starklichtbewegung bei polarisierter Blau-Hellrot-Doppelbelichtung. HR 665 nm, Intensität konstant 2500 erg/cm² · sec. Blau (B): BG 7, E-Vektor quer bzw. parallel zur Längsachse der Zelle gemäß den Symbolen neben den Kurven (vgl. auch Abb. 1). Näheres im Text.

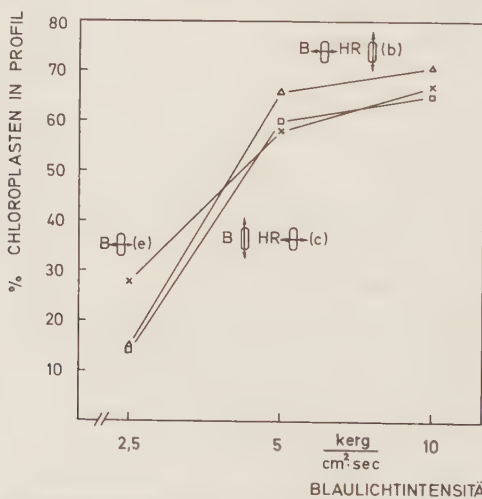


Abb. 10: Blau-Hellrot-Doppelbestrahlung mit polarisiertem Licht bei 2° C. Sonst wie Abb. 9. Belichtungszeit 90 min.

wesentlich modifiziert wurden. Offenbar ist eine Sensibilitätssteigerung durch Rotlicht und/oder Kälte nur bis zu einem Grenzwert möglich, der in diesen Versuchen erreicht wurde.

3. Die Wirkung zusätzlicher Dunkelrot-Bestrahlung

Der durch geeignete Doppelbelichtung ausgelöste reaktionsfördernde «Hellrot-Effekt» sollte, falls das reversible Phytochromsystem beteiligt ist, durch gleichzeitiges Dunkelrot (DR) löschar sein.

Versuchstechnisch wurde das Problem so gelöst, daß gleichzeitig mit der über den Farbteilungsspiegel zugeführten Blau-HR-Doppelbelichtung unter spitzem Winkel unpolarisiertes DR eingestrahlt wurde.

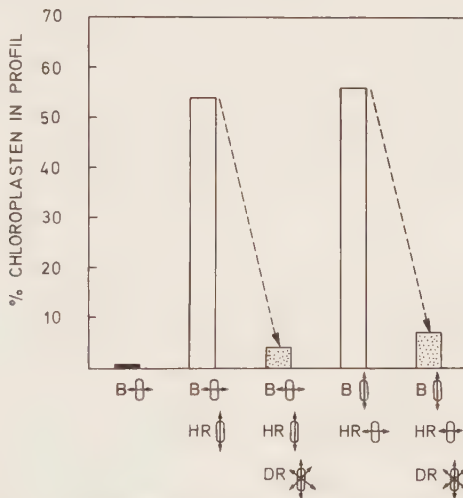


Abb. 11: Die Löschung des «Hellrot-Effekts» durch gleichzeitig eingestrahktes Dunkelrot. Abkürzungen: B = Blau, HR = Hellrot (Schwingungsrichtung durch Symbole angegeben); DR = Dunkelrot (unpolarisiert). Intensitäten: Blau (BG 7) 11 500 erg/cm² · sec; DR (RG 9) 7000 erg/cm² · sec; HR (665 nm) 500 erg/cm² · sec. Die jeweils gemeinsam eingestrahkten Lichtqualitäten sind unter den einzelnen Säulen angegeben, die DR-Löschung ist durch Pfeile gekennzeichnet.

Abb. 11 zeigt die Löschung der durch HR erst ermöglichten Starklichtreaktion mittels DR. Damit ist die Beteiligung des Phytochromsystems erwiesen. Ergänzend sei besonders vermerkt, daß bei *Mougeotia* (SCHÖNBOHM, 1963) eine Löschung der von reinem Blaulicht induzierten Starklichtreaktion durch *nachfolgende* DR-Bestrahlung *nicht* möglich ist.

IV. Die modifizierende Wirkung von Blaulicht niederer Intensität

Strahlt man gleichzeitig mit blauem Starklicht Schwachlicht derselben Wellenlänge ein, so werden ähnliche Ergebnisse gefunden wie bei der Verwendung von hellrotem Schwachlicht (Abb. 12). Dabei ist wieder bemerkenswert, daß nicht nur schwaches (d. h. für die Bewegungsreaktion in jedem Falle unterschwelliges) Blaulicht die Reak-

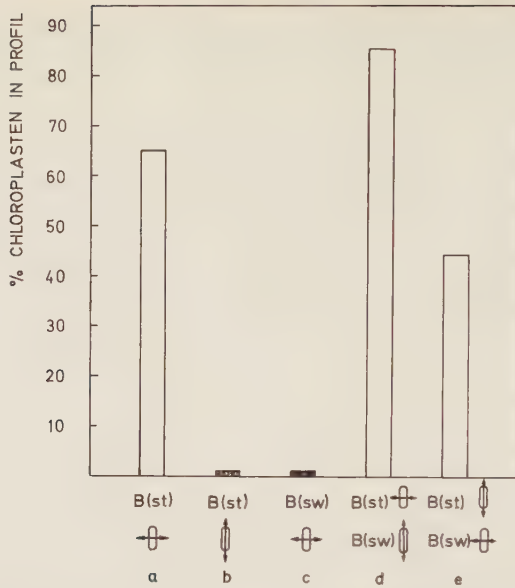


Abb. 12: Die Förderung der Starklichtbewegung durch gleichzeitige Bestrahlung mit blauem Schwachlicht. Intensitäten: Blau-Starklicht (st) $15\,000 \text{ erg/cm}^2 \cdot \text{sec}$ (449 nm); Blau-Schwachlicht (sw) $3500 \text{ erg/cm}^2 \cdot \text{sec}$ (449 nm). Schwingungsrichtung durch Symbole angegeben.

tion in der Kombination «Starklicht quer + Schwachlicht längs» steigert (vgl. d mit a), sondern zwei allein unwirksame Strahlungen («Starklicht längs + Schwachlicht quer»; b, c) zusammen eine hohe Reaktion bewirken (e). Allerdings ist im Falle von blauem Schwachlicht die reaktionsfördernde Wirkung wesentlich schwächer ausgeprägt als bei HR.

Diskussion

Voraussetzung für die Perception der Lichtrichtung und Auslösung der Chloroplastenverlagerung ist die ungleich starke Absorption des Lichtes im Photoreceptorsystem, die zur Ausbildung eines biochemischen oder biophysikalischen Gradienten führt. Die Versuche mit polarisiertem Licht weisen auf eine bestimmte *Orientierung der Photoreceptoren* hin. Im Starklicht- und im Schwachlichtbereich (HAUPT und THIELE, 1961) bewirkt bei *Mesotaenium* polarisiertes Licht nur dann eine Chloroplastenbewegung, wenn sein E-Vektor quer zur Längsachse der Zelle schwingt. Erklären läßt sich dieser Befund durch die *Annahme* einer oberflächenparallelen Lagerung der Photoreceptor-moleküle. Nur bei dieser Anordnung bildet querschwingendes Licht einen Gradienten aus, längsschwingendes hingegen wird allseitig absorbiert (Abb. 13). Wir müssen – nach bisherigen Erfahrungen an *Mougeotia* (BOCK und HAUPT, 1961; SCHÖNBOHM, 1963) – annehmen, daß auch bei *Mesotaenium* die Photoreceptoren der Schwach- und Starklichtbewegung im Ectoplasma lokalisiert sind.

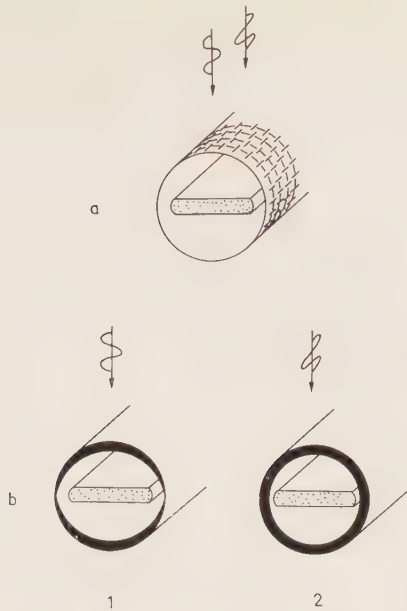


Abb. 13: Modell der Entstehung eines Absorptions-Gradienten in der *Mesotaenium*-Zelle (verändert nach BOCK und HAUPT, 1961). Oberflächenparallele Anordnung der Photorezeptoren (vereinfacht). b) Die durch quer (1) oder längsschwingendes (2) Licht erzeugten Absorptionsverhältnisse sind schematisch als schwarzer Ring angegeben. Die Pfeile geben die Lichtrichtung, die Wellen die Schwingungsrichtung des E-Vektors an.

Unter dem *Einfluß längsschwingenden Starklichts* dreht sich der *Mesotaenium*-Chloroplast schneller aus der Profil- in die Flächenstellung zurück als im Dunkeln. Wahrscheinlich beschleunigt längsschwingendes Starklicht durch allseitige Absorption den Ausgleich eines bestehenden Gradienten, der einer Rückdrehung des Chloroplasten aus der Profil- in die Flächenlage entgegenwirkt. Da die *Mesotaenium*-Zelle im Querschnitt nicht kreisförmig, sondern durch die Auflage in der Horizontalen etwas abgeplattet sein dürfte, könnte die Rückdrehung aus räumlichen Gründen durch mechanische Kräfte bewerkstelligt werden.

Auch der Abfall sämtlicher Dosis-Effekt-Kurven im Bereich überoptimaler Intensitäten (GÄRTNER, 1970) läßt sich aus dem beschriebenen Gradientenmodell deuten: Bei überoptimalen Intensitäten dürfte an der Ober- und Unterseite der Zelle relativ schnell eine Sättigung oder vorübergehende Desaktivierung des absorbierenden Pigments eintreten. Gegen die Flanken der Zelle hin ist aber noch weitere Absorption möglich. Dadurch werden das Gefälle des Gradienten und somit auch die Tendenz zur Profilstellung verringert. Mit Hilfe der oben angenommenen mechanischen rückdrehenden Kräfte könnte so auch die Wirkung überoptimaler nach optimaler Bestrahlung erklärt werden (Abb. 2, VI).

Aufgrund des Wirkungsspektrums muß der *Photoreceptor* ein gelbes Pigment sein. In vielen Fällen wird ein Flavin als Photoreceptor der Chloroplastenbewegung diskutiert (vgl. HAUPT, 1969); sofern wir auch bei *Mesotaenium* ein Flavin annehmen wollen, käme nach dem Chromatogramm nur FMN in Frage, da FAD photoinaktiv sein soll (ZENK, 1966).

Im Detail stimmt das Wirkungsspektrum von *Mesotaenium* jedoch nur teilweise mit den Wirkungsspektren der Chloroplastenbewegung anderer Pflanzen überein. Oberhalb 400 nm ist das Spektrum demjenigen von *Lemna* (ZURZYCKI, 1962), *Vaucheria* (HAUPT und SCHÖNFELD, 1962) und *Elodea* (SEITZ, 1963) ähnlich, während das Maximum bei *Mougeotia* mehr zum Langwelligen verschoben ist (SCHÖNBOHM, 1963). Unterhalb 400 nm ist die Wirksamkeit bei *Mesotaenium* erheblich geringer als bei allen genannten Pflanzen. Derartige Unterschiede lassen sich jedoch unter der Annahme deuten, daß die chromophore Gruppe des Photoreceptors in den verschiedenen Pflanzen an unterschiedliche Proteine gebunden ist. Auch im Falle des Phytochroms ist ja bekannt, daß die Absorptionskurven bei verschiedenen Objekten gegeneinander verschoben sind (GILES und v. MALTZAHN, 1967; TAYLOR und BONNER, 1967).

Stark- und Schwachlichtbewegung haben bei *Mesotaenium* ebenso wie bei *Mougeotia* verschiedene Wirkungsspektren – erstere mit ausschließlicher Blauwirksamkeit, letztere mit bevorzugter Wirkung im Rotlicht als typische Phytochromreaktion (HAUPT, 1959)¹⁾. Bei *Mougeotia* konnte SCHÖNBOHM (1966) jedoch zeigen, daß dieser Unterschied nicht primär auf zwei verschiedene Photoreceptorsubstanzen für die beiden Bewegungstypen zurückzuführen ist. Vielmehr ist für die Orientierung stets ein Absorptionsgradient im Phytochrom ausschlaggebend. Dieser Gradient, der normalerweise zur Schwachlichtreaktion führt, bewirkt dann eine Starklichtbewegung, wenn gleichzeitig Blaulicht hinreichender Intensität aus beliebiger Richtung eingestrahlt wird. Das könnte auch für *Mesotaenium* gelten, wenn das Zusammenwirken querschwingender HR- und längsschwingender Blaubestrahlung berücksichtigt wird (Abb. 9 c). Ungeklärt bleibt dann aber noch, warum im Gegensatz zu *Mougeotia* HR längsschwingend mit Blau querschwingend kombiniert (Abb. 9 b) ebenso stark wirkt, während HR querschwingend in Kombination mit Blau querschwingend (Abb. 9 a) deutlich weniger wirksam ist.

Bedingt durch die ausschließliche Wirksamkeit von querschwingendem Licht im Starklicht und im Schwachlichtbereich, war es möglich, die Reaktion auf *Doppelbelichtungen mit blauem Licht* verschiedener Schwingungsrichtung zu untersuchen. Ein durch querschwingendes blaues Schwachlicht erzeugter Gradient führt – wenn auch in geringerem Maße als bei HR – mit Hilfe von gleichzeitig eingestrahlttem längsschwingendem Starklicht ebenso zur Starklichtreaktion. Es kann vermutet werden, daß diese Reaktion ebenfalls nach dem Mechanismus der Hellrot-Wirkung bei Doppelbelichtungen verläuft. Weniger verständlich ist jedoch wiederum, weshalb längsschwingendes blaues Schwachlicht die Wirkung von querschwingendem Starklicht erhöht (Abb. 12 e); das ist um so bemerkenswerter, als längsschwingendes Starklicht zusätzlich zu querschwingendem dessen Effekt eher vermindert, aber keinesfalls erhöht.

¹⁾ Daneben wird von DORSCHIED und WARTENBERG (1966) für die Schwachlichtbewegung Chlorophyll als zusätzlicher Photoreceptor diskutiert.

Vielleicht kann die Mehrzahl der Beobachtungen durch die Vorstellung erklärt werden, daß für die *Starklichtbewegung* zwei *Voraussetzungen* gegeben sein müssen:

1. Es muß ein Absorptionsgradient erzeugt werden, sei es durch Schwachlicht im Phytochrom oder durch Starklicht im gelben Pigment.
2. Das für die Fläche-Kante-Bewegung erforderliche Energieniveau muß durch blaues Starklicht eingestellt werden.

Blaues Starklicht kann also verschieden wirken. Ist sein E-Vektor quer zur Zell-längsachse orientiert, so kann es sowohl einen Absorptionsgradienten erzeugen, als auch die für die Auslösung der Folgeprozesse nötige Aktivierungsenergie liefern. Längsschwingendes blaues Starklicht wirkt «tonisch», indem es einen von querschwingendem Schwachlicht (Hellrot oder Blau) hervorgerufenen Gradienten «transformiert» und auf das für die Starklichtbewegung erforderliche Energie-Niveau «hebt». Diese Hypothese setzt eine Energieleitung zwischen Phytochrom und dem gelben Pigment voraus.

Im Gegensatz zu *Mougeotia* (SCHÖNBOHM, 1967) liegen bei *Mesotaenium* keine experimentellen Befunde vor, die wahrscheinlich machen, daß der Gradient für Stark- und Schwachlichtbewegung grundsätzlich im Phytochrom gebildet würde.

Für die stete Bereitschaft, den Fortgang der Arbeit in jeder Weise zu fördern, spreche ich Herrn Prof. Dr. W. HAUPT meinen besonderen Dank aus.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Literatur

- BOCK, G., und W. HAUPT: *Planta* 57, 518–530 (1961).
DORSCH, T., und A. WARTENBERG: *Planta* 70, 187–192 (1966).
FISCHER, W.: *Z. Bot.* 51, 348–387 (1963).
GÄRTNER, R.: *Z. Pflanzenphysiol.* 63, 147–161 (1970).
GILES, K. L., and K. E. v. MALTZAHN: *Canad. Jour. Bot.* 46, 305 (1968).
HAUPT, W.: *Planta* 53, 484–502 (1959).
– *F. Bot.* 31, 164–168 (1969).
HAUPT, W., und R. GÄRTNER: *Naturwiss.* 53, 411 (1966).
HAUPT, W., und I. SCHÖNFELD: *Ber. dt. Bot. Ges.* 75, 14–23 (1962).
HAUPT, W., und R. THIELE: *Planta* 56, 388–401 (1961).
JAFFE, L., and H. ETZOLD: *J. Cell Biol.* 13, 13–31 (1962).
MAYER, F.: *Z. Bot.* 52, 346–381 (1964).
SCHÖNBOHM, E.: *Z. Bot.* 51, 233–276 (1963).
– *Z. Pflanzenphysiol.* 53, 344–355 (1965).
– *Z. Pflanzenphysiol.* 55, 278–286 (1966).
– *Z. Pflanzenphysiol.* 56, 282–291 (1967).
SEITZ, K.: *Protoplasma* 58, 621–640 (1963).
STEINER, A. M.: *Photochem. Photobiol.* 9, 507–513 (1969).
TAYLOR, A. O., and B. A. BONNER: *Plant Physiol.* 42, 762–766 (1967).
ZENK, M. H.: *Z. Anal. Chemie* 206, 198–200 (1964).
– *Z. Pflanzenphysiol.* 56, 122–140 (1966).
ZURZYCKI, J.: *Acta Soc. Bot. Polon.* 31, 489–538 (1962).
– *Acta Soc. Bot. Polon.* 36, 143–152 (1967).

Dr. RAIMUND GÄRTNER, Botanisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg, 852 Erlangen, Schloßgarten 4.

Lebenslauf

Als Sohn des Volksschullehrers Heinrich Gärtner und dessen Ehefrau Anna Margarete, geb. Büttner, wurde ich, Raimund Horst Gärtner, am 2. Juni 1941 zu Nürnberg geboren. Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule, von 1951 bis 1960 die Oberrealschule in Schwabach. Im Wintersemester 1960/61 begann ich das Studium der Naturwissenschaften in den Fächern Chemie, Biologie und Erdkunde an der Friedrich Alexander Universität Erlangen. Dort legte ich im Jahre 1966 das Staatsexamen ab. Die Referendarausbildung für das Lehramt an Gymnasien begann ich im Herbst 1967 am Studienseminar des Dürer-Gymnasiums in Nürnberg.

